

1. SOUHRN

Jedním z mechanismů oprav DNA poškozené vlivem vnějších činitelů je nukleotidová excizní reparace (NER). Ta hraje roli především při odstraňování následků způsobených UV zářením. Poškozené báze se ve formě pyrimidinových dimerů enzymaticky vyštěpují z DNA jako součást oligonukleotidů. Působení UV světla na DNA se však projevuje též nepřímo, a to oxidací bází. V našem experimentu jsme se snažili zjistit, zda buňky deficientní v nukleotidové excizní reparaci jsou schopny opravovat poškození indukované pouze oxidativním činitelem.

Stanovovali jsme velikost poškození DNA v buňkách *in vitro* a schopnost jejich reparace po ovlivnění roztokem peroxidu vodíku o různé koncentraci. K experimentům jsme použili buněčné linie křeččíka čínského, a to rodičovské buňky AA8 a od nich odvozené buňky UV-20, které jsou defektní v genu ERCC1. Tento gen se podílí na tvorbě nukleáz účastnících se nukleotidové excizní reparace.

Ke stanovení jsme použili metodu alkalického kometového testu, jejíž základem je alkalická gelová elektroforéza. Princip této metody spočívá v detekci zlomů, které vznikají v poškozených alkalilabilních místech. Hodnotili jsme počet jednořetězcových zlomů DNA. Detekovali jsme buď zlomy indukované samotným peroxidem vodíku (SSB), nebo zlomy vzniklé po působení enzymu, který v DNA specificky rozpoznává místa, kde došlo vlivem peroxidu k oxidaci báze. Jednalo se o enzym endonukleáza III, štěpící DNA v místech oxidovaného pyrimidinu (endo III místa), a enzym formamidopyrimidin-DNA-glykosyláza, štěpící DNA v místech oxidovaného purinu (FPG místa).

Na základě našich pokusů jsme zjistili, že jak buňky AA8, tak i deficientní UV-20 jsou schopny opravovat oxidativní poškození. Oba typy buněk vykazovaly k peroxidu vodíku srovnatelnou citlivost. Došli jsme proto k závěru, že defekt v mechanismu nukleotidové excizní reparace DNA nemá vliv na schopnost těchto buněk opravovat poškození zapříčiněné oxidativním činitelem.